

**К МЕХАНИЗМУ ПЕРСИСТЕНЦИИ
TOXOPLASMA GONDII — МАЛОВИРУЛЕНТНОГО ШТАММА
В ОРГАНИЗМЕ ХОЗЯИНА**

М. А. Савина

Институт эпидемиологии и микробиологии
им. Н. Ф. Гамалеи АМН СССР, Москва

Измерением диаметра цист токсоплазм в мозгу беспородных и линейных мышей (AKR и CC57BR) с экспериментальной хронической инфекцией (с 14-го дня до 1 года), вызванной маловирулентным чешским штаммом, выявлено, что к 7 неделям прекращается рост объема цист. Наблюдаемое к этому времени соотношение цист разных размеров стабильно сохраняется на протяжении не менее 8 мес. К 1 году инфекции у ряда животных отмечается реинвазия мозга. Стабилизация, а затем реактивация инвазионного процесса хорошо коррелируют с динамикой гуморальных антител (в РСК и РИФ).

Исследование закономерностей персистенции патогенных простейших в макроорганизме представляет одну из актуальных и недостаточно изученных проблем их биологии и патогенеза инфекций, вызываемых ими.

Токсоплазмы в клетках тканей макроорганизма (помимо сем. кошачьих) могут находиться в виде единичных внутриклеточных организмов — эндоzoитов или инцистированных — цистозоитов (Hoare, 1972). Первые характерны для острой стадии инфекции или периода реинвазий, тогда как вторые — для латентной и хронической. Именно тканевые цисты являются той стадией паразита, которая обеспечивает его длительное сохранение в организме хозяина. Несмотря на то что эта стадия жизненного цикла токсоплазм уже давно привлекала пристальное внимание исследователей, многие стороны ее жизнедеятельности мало известны.

Большинство авторов, изучавших в эксперименте особенности инвазии токсоплазмами головного мозга животных, обращали внимание на количественную сторону этого процесса и, как правило, констатировали увеличение количества цист в мозгу в первые несколько недель после заражения, а затем снижение с возможными периодическими подъемами (Waij, 1959; Nakayama e. a., 1962; Werner e. a., 1969, Савина, 1968; Jira e. a., 1971; Калякин, 1972). Меньше известно о качественных особенностях роста цист. При развитии маловирулентных токсоплазм в головном мозгу мышей обнаружено, что до 10 недель после заражения происходит увеличение объема цист, позднее размеры цист у разных особей становятся более разнообразными вследствие появления новых «молодых» цист (Beverley, 1958). Аналогично после 5—8 недель инфекции, вызванной маловирулентным штаммом токсоплазм, средний диаметр цист практически не увеличивался: 26 мкм (средняя арифметическая) — через 4 недели, 37 — через 8 и 40.5—42.5 мкм — с 12-й по 24-ю неделю (Waij, 1959; Motomuro e. a., 1970).

Мы решили исследовать закономерности роста и персистенции цист токсоплазм в головном мозгу экспериментально зараженных животных в динамике инфекционного процесса при сопоставлении паразитологических и иммунологических данных.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Исследования проведены на чувствительных к токсоплазмам животных — беспородных и линейных мышах СС57ВВ (чувствительны в острый и хронический периоды инфекции) и АКВ (чувствительны в хронический период, Савина, 1975), зараженных токсоплазмами маловирулентного штамма, выделенного в Чехословакии от зайца *Lepus europaeus*. Наблюдения проводились на мышах с 14-го дня до 1 года с момента заражения. В каждый срок забивалось по 4—6 мышей без клинических проявлений заболевания и подсчитывалось и измерялось с помощью окуляр-микрометра в среднем по 200—300 цист токсоплазм в нативных препаратах мозга (кусочках, раздавленных под покровным стеклом). Всего измерено около 3000 цист от 72 беспородных мышей, более 1500 цист от 30 мышей СС57ВВ и более 2000 цист от 22 мышей линии АКВ. Параллельно исследовали уровень антител в РСК и РИФ (приведены данные только для мышей СС57ВВ). Полученные данные отражены в графиках и таблицах.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Выявлено, что у беспородных мышей наиболее интенсивен процесс образования цист, являющийся следствием первичной паразитемии, и их роста до 3 недель с момента заражения. Через 3—4 недели максимум (до 66 %) приходится на цисты диаметром до 20 мкм. Через 5 недель максимум перемещается в следующую группу — 21—30 мкм. К 7-й неделе максимум цист, хотя и сохраняется в прежней группе (21—30 мкм), увеличивается процент более крупных цист. Таким образом, в указанные сроки вследствие роста диаметра цист наблюдается закономерное смещение максимума цист в группы 21—30 и 31—40 мкм.

Полученная к 7-й неделе картина соотношения цист разного размера удивительно стабильно сохранялась до 38 недель после заражения. Самое интересное, что постоянно имелись мелкие цисты, несмотря на прекращение паразитемии уже к 30-му дню после заражения (Савина и др., 1969). В то же время не происходило накопления крупных цист. Максимум цист приходился на группу 21—50 мкм (рис. 1). Такая же картина наблюдалась в мозгу мышей линий АКВ, СС57ВВ (табл. 1, рис. 2—4) и ряда других спорадически обследованных линий (СЗН, С57ВВ/6j, ВАВВ/с, СС57ВВ).

Через 52 недели после заражения у ряда животных мы регистрировали «омоложение» состава цист (увеличение процента мелких и сокращение крупных цист), что отразилось на сдвиге влево кривой соотношения цист разных размеров, это наглядно представлено на рис. 1, 2. Этот факт указывает, с нашей точки зрения, на реинвазию мозга.

Исследование титров антител в РСК и РИФ у мышей линии СС57ВВ показало сохранение высокого уровня антител вплоть до 38-й недели с момента заражения. Через 1 год после заражения отмечено снижение титров антител в обеих реакциях (табл. 2).

Т а б л и ц а 1

Процентное соотношение цист токсоплазм разных размеров (диаметра) в мозгу мышей СС57ВВ, АКВ и беспородных (суммарные данные за период от 7 до 38 недель)

Размер цист (в мкм)	Соотношение цист разных размеров (в процентах)		
	мыши СС57ВВ	мыши АКВ	беспородные
0—20	9.07	8.45	7.92
21—50	78.16	74.80	79.90
51—90	12.85	16.43	10.92

Т а б л и ц а 2
Динамика титров антител к токсоплазмам в РСК и РИФ
у мышей линии СС57BR

Время с момента заражения (в неде- лях)	Титр антител в РСК (сред- няя геомет- рическая)	Количество использован- ных сыворо- ток	Титр антител в РИФ (средняя гео- метрическая)	Количество исследован- ных сыворо- ток
5	2.1	15	—	—
7	14.4	19	61.6	22
14	20.4	6	79.5	6
24	17.3	5	169.0	11
32	96.5	13	230.0	8
38	158.5	6	316.0	6
52	23.0	10	91.0	10

ОБСУЖДЕНИЕ

Может быть выдвинуто два предположения относительно причин стабильного сохранения одинакового состава цист на протяжении от 7 до 38 недель после заражения. 1) Происходит постоянное активное цистообразование (как это предполагал Waaij, 1959), рост цист и разрушение зрелых цист, т. е. смена микропопуляции, сохраняющей свою возрастную стабильность. 2) С развитием иммунитета до определенного уровня образование цист прекращается (так как еще раньше прекращается паразитемия, размножение эндозоитов и выход их в кровь), и, что самое важное, прекращается размножение токсоплазм в образовавшихся цистах независимо от их размеров.

Против первого предположения свидетельствует тот факт, что разрушающиеся цисты в головном мозгу разных видов животных и тканевая реакция вокруг них — довольно редкое явление. Если бы процесс разрушения цист происходил постоянно, а это было бы неизбежно при постоянном размножении токсоплазм и при росте объема цист, реакция тканей на паразита была бы обычным явлением. При этом инфекция протекала бы значительно тяжелее: со временем степень инвазированности мозга и других органов повышалась бы, и летальность животных в хронической стадии инфекции была бы значительно выше. Литературные и полученные нами данные этого не подтверждают. Напротив, у большинства животных уровень инвазии мозга через 7—10 недель после заражения снижается. Таким образом, более вероятно второе предположение о прекращении размножения инцистированных токсоплазм и о росте цист с развитием напряженного иммунитета.

Вопрос о связи инвазионного процесса в головном мозгу и иммунологических факторов обсуждался уже длительное время. Совершенно очевидно, что на ранних стадиях инфекции факторы иммунитета останавливают ее развитие, однако причинная зависимость в хроническом периоде инвазии не совсем ясна. Вернер и другие (1969) отмечали особенно тесную корреляцию уровня инвазии головного мозга у мышей и титров антител в реакции Себина—Фельдмана в хронический период инвазии, однако не сделали выводов об их причинной зависимости. Связь уровня инвазии и титров антител в РСК у белых мышей тщательно прослежена (Jira e. a., 1972), однако неясно, определяет ли степень инвазии уровень антител в хронический период, или наоборот. В экспериментальной работе (Werner e. a., 1978) доказано снижение цистного индекса в мозговой ткани мышей с хронической токсоплазмозной инфекцией уже через 2 дня после введения различными путями животным специфических иммунных сывороток.

Полученные нами данные о динамике гуморальных антител хорошо коррелируют с картиной инвазии мозга цистами по ходу инфекционного

процесса: до 38 недель в период высоких титров антител отмечается сохранение стабильного состава цист, а в период их снижения — «омоложение» состава цист (превалирование мелких цист и отсутствие крупных), т. е. реинвазия мозга.

Известно, что антитела, хотя и не проникают внутрь цист, обнаруживаются в их стенках (Carver *et al.*, 1959). Таким образом, антитела, видимо, каким-то образом блокируют цисты и оказывают тормозящее действие на процесс размножения инцистированных токсоплазм. Стабилизация

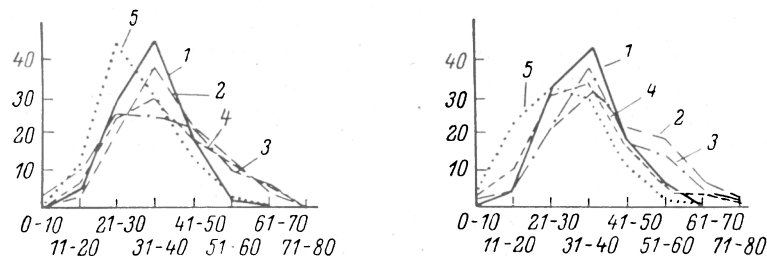


Рис. 1. Процентное соотношение цист токсоплазм разного размера в мозге беспородных мышей (здесь и на рис. 2, 3: 7-я, 14-я, 23-я, 32-я, 53-я недели, кривые 1—5) после заражения.

Измерено цист: 1 — 322 (10 мышей), 2 — 312 (6 мышей), 3 — 465 (5 мышей), 4 — 377 (14 мышей), 5 — 128 (3 мыши). По оси абсцисс — число цист, в процентах; по оси ординат — диаметр цист, в мм.

Рис. 2. Процентное соотношение цист токсоплазм разного размера в мозге мышей линии АКР с 7-й по 52-ю неделю (кривые 1—5) после заражения.

Измерено цист: 1 — 169 (4 мыши), 2 — 523 (5 мышей), 3 — 527 (5 мышей), 4 — 173 (3 мыши), 5 — 218 (3 мыши).
Остальные обозначения такие же, как и на рис. 1.

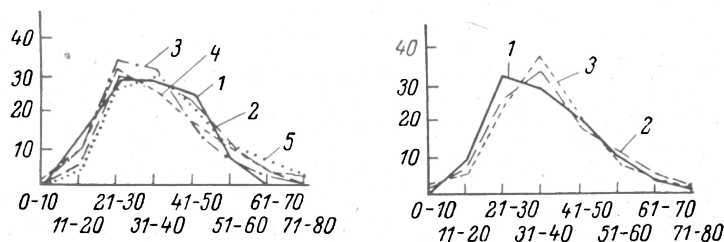


Рис. 3. Процентное соотношение цист токсоплазм разного размера в мозге мышей линии CC57BR с 7-й по 52-ю неделю (кривые 1—5) после заражения.

Измерено цист: 1 — 157 (5 мышей), 2 — 425 (8 мышей), 3 — 388 (6 мышей), 4 — 359 (7 мышей), 5 — 95 (1 мышь).
Остальные обозначения такие же, как и на рис. 1.

Рис. 4. Процентное соотношение цист разного размера в мозге мышей различных линий с 7-й по 52-ю неделю (кривые 1—3) после заражения.

Линии мышей: 1 — CC57BR (измерено 1424 цисты — 27 мышей), 2 — АКР (измерено 1610 цист — 20 мышей), 3 — АКР (измерено 1596 цист — 40 мышей).
Остальные обозначения такие же как и на рис. 1.

ция инвазионного процесса при заражении животных токсоплазмами маловирулентного штамма делает понятной причину длительного бессимптомного или малосимптомного течения инфекции у большинства животных даже при интенсивном заражении их мозга цистами.

Возникает вопрос, почему соотношение цист различных размеров напоминает нормальное распределение? С нашей точки зрения, кривая нормального распределения цист разного размера отражает динамику первичной паразитемии и соответственно динамику цистообразования в острый период инфекции. Небольшое количество крупных цист — результат инцистирования первых проникших в мозг токсоплазм, успевших размножиться в цистах в период низкого уровня антител. Основная масса цист разме-

ром 21—50 мкм — отражение пика паразитемии и небольшое количество мелких — результат инцистирования токсоплазм в период окончания паразитемии и высокого титра антител, вследствие чего размножение токсоплазм в них быстро прекратилось и цисты остались мелкими.

Мы даем лишь общую схему инвазионного процесса мозга, допуская, что он может быть более сложным вследствие повторных паразитемий у наиболее чувствительных особей, а также возможности сохранения внутриклеточных токсоплазм.

ВЫВОДЫ

1. На экспериментально зараженных токсоплазмами маловирулентного штамма мышах (беспородных и линий AKR и CC57BR) показано, что с развитием иммунитета к 7 неделям инфекции прекращается рост диаметра цист, вследствие прекращения размножения инцистированных токсоплазм.

2. Соотношение цист разных размеров, наблюдаемое к 7-й неделе инфекции (около 10% цист диаметром до 20 мкм, 70—80% — 21—50 и 11—16% — 51 мкм и выше), практически стабильно сохраняется во всех трех группах мышей до 8 мес.

3. Наблюдаемое соотношение цист разных размеров представляет кривую нормального распределения и, видимо, является отражением хода паразитемии.

4. Прекращение размножения инцистированных токсоплазм и сохранение неизменным соотношения цист разного размера хорошо коррелирует с динамикой титров антител и, видимо, обусловлено их действием.

5. Длительная стабилизация инвазионного процесса в период высокого уровня иммунитета делает понятным причину длительного и относительно малосимптомного течения инфекции, вызванной токсоплазмами маловирулентного штамма.

Л и т е р а т у р а

- Калякин В. Н. О вероятности микроскопического выявления цист *Toxoplasma gondii* в мозге белых мышей в зависимости от количества введенных им паразитов и длительности инвазии. — Мед. паразитол. и паразитарн. болезни, 1972, № 1, с. 73—76.
- Савина М. А., Засухин Д. Н. О росте цист маловирулентного штамма токсоплазм в головном мозге белых мышей. — Мед. паразитол. и паразитарн. болезни, 1968, № 3, с. 333—336.
- Савина М. А., Засухин Д. Н. Паразитемия у белых мышей, зараженных маловирулентным штаммом токсоплазм. — Мед. паразитол. и паразитарн. болезни, 1969, № 6, с. 665—669.
- Савина М. А. Чувствительность линейных мышей к токсоплазмам маловирулентного штамма по данным паразитологического обследования. — Паразитология, 1975, т. 9, вып. 5, с. 443—448.
- Beverly J. K. A. A rational approach to the treatment of toxoplasmic uveitis. — Trans. ophthalm. Soc. U. K., 1958, vol. 78, p. 109—121.
- Carver R. K., Goldman M. Staining *Toxoplasma gondii* with fluoresceinlabelled antibody. III. The reaction in frozen and paraffin sections. — Am. J. Clin. Path., 1959, vol. 32, p. 159—164.
- Hoare C. A. The development stages of *Toxoplasma*. — Am. J. Trop. Med. Hyg., 1972, vol. 75, p. 56—58.
- Jira J., Zítová D., Princová D. Kinetics of appearance of cysts and antibodies in experimental mouse toxoplasmosis. — Folia parasitologica (Praha), 1971, vol. 18, p. 295—302.
- Motomuro I., Jo K. Estimation of the number of parasites contained within a cyst, and growth and distribution of cysts in the brains of mice infected with *Toxoplasma gondii*. — Trop. med., 1970, vol. 12, N 2, p. 41—50.
- Nakayama I., Matsubayashi H. On the distribution and the growth of cysts of *Toxoplasma gondii* in the central nervous system and eyes of mice in the experimental infection. — Keijo J. Med., 1962, vol. 11, N 2, p. 69—80.
- Waaij van der. Formation, growth and multiplication of *Toxoplasma gondii* cysts in mouse brains. — Trop. and Geogr. Med., 1959, vol. 11, N 4, p. 345—360.
- Werner H., Pichl H. Vergleichende Untersuchungen an zystenbildenden *Toxoplasma*-Stämmen. II. Mitteilung: Zystenentwicklung und humorale Antikörperbildung. — Zbl. für Bakt. Parasitk. Infektkrh. und Hyg., B210, 1969, N 3, p. 402—416.

W e r n e r H., M a s i h i K. N., M e i n g a s s n e r J. G. Investigation on the effect of immune serum therapy on cyst of *Toxoplasma gondii* in latent infected mice. — Zbl. für Bakt. Parasitk. Infektkrh. und Hyg., Abt. I-Orig. A242, 1978, vol. 3, p. 405—413.

ON THE MECHANISM OF PERSISTENCE OF TOXOPLASMA GONDII
LOW-VIRULENT STRAIN IN THE HOST'S ORGANISM

M. A. Savina

S U M M A R Y

The diameters of toxoplasms' cysts in native preparations of brain of bredless and inbred mice /AKR and CC57BR/ infected with the toxoplasms of Czech low-virulent strain were measured.

It is shown that the growth of cysts ceases by the 7th week from the infection and the ratio between cysts of different sizes does not change for 38 weeks and more. The curve of the ratio between cysts of different sizes, which in the period of infectious process stabilization is close to the even distribution curve, is apparently a result of primary parasitemia.

By the 1st year of the infection a reactivation of the infection in some animals occurs judging by the rise of the number of small cysts. Stabilization and then reactivation of the infection are correlated with the dynamics of humoral antibodies.
